
UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

KATEDRA BOTANIKI I EKOLOGII ROŚLIN
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Pl. Grunwaldzki 24a
50-363 Wrocław

Dr hab. Ludwik Żołnierz, prof. UPWr

Wrocław, 12 sierpnia 2024 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Anny Brudzińskiej-Kosior pt. „Zróżnicowanie siedliskowe, biogeochemiczne i struktura genetyczna wybranych populacji *Centaurium erythraea* Rafn (Gentiaceae) z południowo-zachodniej Polski"

Promotor: dr hab. Anna Jakubska-Busse, prof. UWr

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pani mgr Anny Brudzińskiej-Kosior jest obszernym studium poświęconym w swoim głównym nurcie współzależnościom pomiędzy zawartościami w glebach i zdolnością do akumulacji w liściach centurii pospolitej *Centaurium erythraea* makro- i mikroelementów oraz pierwiastków śladowych, a także określenie koncentracji w liściach związków zaliczanych do kategorii trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO). Badaniami objęto dziesięć populacji gatunku na stanowiskach w południowo-zachodniej Polsce, w przestrzeni od rejonu Bogatyni, poprzez południową część Borów Dolnośląskich, okolice Wrocławia po centralną Opolszczyznę. Parametry biometryczne badanych populacji posłużyły do opisu ich zróżnicowania oraz jako miara reakcji roślin na koncentracje pierwiastków w glebach na ich stanowiskach. Badane było również zróżnicowanie genetyczne populacji z odniesieniem zidentyfikowanych haplotypów do danych dotyczących europejskiego zasięgu gatunku. Ponadto prowadzono badania doświadczalne dotyczące energii kiełkowania nasion, ich żywotności, wpływu przemrażania i dostępu światła. W toku czteroletniego monitoringu analizowana była dynamika liczebności i struktura demograficzna populacji.

Manuskrypt rozprawy obejmuje 107 stron tekstu, wykazy 244 pozycji cytowanej literatury i 14 źródeł internetowych. Warstwę ilustracyjną i dokumentację wyników badań zawarto w treści 14 rycin i 33 tabel. Jest on utrzymany w typowym dla reprezentowanej dziedziny nauki układzie rozdziałów ze „Wstępem", osobnymi rozdziałami opisującymi cele badań i przyjęte hipotezy badawcze; rozdziałami przedstawiającymi charakterystykę gatunku i obszaru badań; rozdziałami: „Materiał i metody", „Wyniki", „Dyskusja", „Podsumowanie" i „Wnioski". Rozprawa została zaopatrzona w streszczenia polskie i angielskie oraz spisy tabel i rysunków.

Ocena szczegółowa

We „Wstępie" Autorka wyjaśnia powody podjęcia badań centurii pospolitej. Jest to gatunek jej zdaniem narażony na wpływ antropopresji, mimo objęcia częściową ochroną prawną. Zagrożenie gatunku prowadzące do spadku liczby stanowisk wynika z intensywnej eksploatacji jego naturalnych zasobów na potrzeby przemysłu zielarskiego. Dotychczasowe badania nie dotyczyły zagadnień ekologicznych i biogeochemicznych. Przedstawiana praca jest wg Autorki pierwszym w Polsce studium w zakresie tych zagadnień, a ponadto opisuje zróżnicowanie genetyczne w południowo-zachodniej części kraju. Autorka uzasadniła potrzebę badań bioindykacyjnych zanieczyszczeń, szczególnie zawierających metale ciężkie i toksycznych związków organicznych jako istotnych w kontekście zagadnień dotyczących jakości surowców farmaceutycznych i bezpieczeństwa stosowania wykonanych z nich preparatów. Opisana została rola centurii pospolitej na tle współczesnego wykorzystywania roślin leczniczych. Wśród toksycznych związków organicznych badanych w pracy szerzej i interesująco została opisana grupa polibromowanych eterów difenylowych (PBDE). W końcowej części „Wstępu" zarysowane zostało zagadnienie systematyki gatunku ze wskazaniem podgatunków charakterystycznych dla Europy Środkowej.

„Wstęp" moim zdaniem wystarczająco dobrze wprowadza czytelnika w problematykę pracy, zwraca uwagę na jej najistotniejsze elementy i prowadzi do kolejnych rozdziałów przedstawiających cele badań i założone hipotezy robocze. Do drobnych potknięć zaliczam sformułowanie o wykorzystaniu w biomonitoringu roślinności, która miałaby mieć zdolność akumulacji zanieczyszczeń (str. 6). Roślinność w ścisłym naukowym znaczeniu tego pojęcia to ogół zbiorowisk

roślinnych danego terenu (por. np. Słownik botaniczny pod redakcją A. i J. Szweykowskich), a zdolnością do akumulacji zanieczyszczeń mogą się odznaczać wchodzące w jej skład gatunki roślin. W części opisującej zagadnienie polibromowanych eterów difenylowych (str. 6-7) zamiennie stosowane są skróty PDBE i poprawny, jak sądzę, PBDE. Niefortunnie zostało sformułowane pierwsze zdanie tekstu, jednak pozostała część rozdziału – i całej pracy – napisana jest poprawnym językiem i czyta się ją z przyjemnością.

W kolejnym rozdziale sformułowano w sposób ogólny trzy cele badań: 1) określenie zróżnicowania wybranych siedlisk centurii pod względem zawartości makro- i mikroelementów, pierwiastków śladowych, metali ciężkich i trwałych zanieczyszczeń organicznych, 2) ocena zdolności do akumulacji tych pierwiastków i związków w pędach centurii oraz 3) przeprowadzenie badań genetycznych w celu potwierdzenia prawidłowej identyfikacji taksonów wobec dużej zmienności fenotypowej roślin. Tak określone zadania badawcze zostały w dalszej części rozpisane na sześć szczegółowych celów. Zabieg ten ułatwia czytelnikowi wyobrażenie sobie struktury pracy i jej dalszą lekturę. Zwróciłem uwagę, że w celach szczegółowych wśród wymienionych analizowanych pierwiastków pominięto makroelementy (poza Mg), a występują one w dwóch pierwszych wnioskach na końcu pracy. Pominięto również badania kiełkowania nasion, którym poświęcony jest w opisie wyników osobny rozdział dotyczący zagadnienia odrębnego w stosunku do pozostałych.

W rozdziale trzecim wymienione zostały przyjęte hipotezy badawcze. Jest ich pięć. Dwie pierwsze zakładają istotność wpływu zawartych w glebie makro- i mikroelementów na wielkość rozet juwenilnych osobników *Centaurium erythraea* (H1) i na parametry biometryczne centurii (H2). Sądzę, że pierwsza hipoteza zawiera się w drugiej. Kolejna hipoteza (H3) zakłada, że światło warunkuje kiełkowanie nasion *C. erythraea*. Jak wspomniałem wyżej, badania kiełkowania nasion zostały pominięte w rozdziale „Cele badawcze pracy".

Kolejny, czwarty rozdział jest bardzo obszerny i został poświęcony charakterystyce centurii pospolitej jako obiektu badań. W kolejnych podrozdziałach Autorka opisała ogólne cechy biologiczne gatunku, architekturę jego pędów, zmienność morfologiczną i chemotaksonomiczną, pozycję systematyczną i ciekawą historię nazewnictwa sięgającą czasów starożytnych. Opisany został zasięg

występowania gatunku z uwzględnieniem w skali globalnej obszarów, gdzie został introdukowany. W kolejnym krótkim podrozdziale scharakteryzowane zostały wymagania siedliskowe centurii. Wynikają one głównie w sposób pośredni ze znanych cech siedlisk wymienionych tu zbiorowisk roślinnych, w których ten gatunek można spotkać. Ostatni, najszerszy podrozdział został poświęcony zastosowaniom farmaceutycznym centurii pospolitej. Przedstawiona została szczegółowo natura oddziaływania chemicznego gatunku i zastosowania w medycynie tradycyjnej i profesjonalnej od starożytności po czasy współczesne oraz w ujęciu geograficznym w odniesieniu do zasięgu występowania gatunku. To bardzo interesująca część rozprawy. Podrozdział jest napisany z rozmachem i w sposób budzący ciekawość czytelnika.

Rozdział 5 opisuje teren badań. Lokalizacje stanowisk badawczych przyporządkowano do jednostek klasyfikacji regionów fizycznogeograficznych Polski i na tym poziomie ogólności opisano ich cechy tektoniczne i krajobrazowe. Wydaje mi się, że charakterystyka tektoniczno-stratygraficzna na poziomie regionalnym tylko w pośredni sposób określa właściwości siedlisk w skali przestrzennej dotyczącej konkretnych lokalizacji powierzchni badawczych w tej pracy. Bardziej użyteczne byłoby moim zdaniem wykorzystanie informacji z map geologicznych pokazujących jakie skały występują na powierzchni w poszczególnych miejscach. To samo dotyczy charakterystyki klimatu. Dane dotyczące temperatur, okresu zalegania pokrywy śniegowej i długości okresu wegetacyjnego dla Sudetów, łącznie ze szczytem Śnieżki nie mają związku z charakterystyką klimatyczną dla lokalizacji powierzchni badawczych na terenie nisko położonych partii Pogórza Zachodniosudeckiego czy Niziny Śląskiej. Skąpe są informacje na temat gleb na poszczególnych powierzchniach, jak również roślinności w której składzie występowała centuria. Użyteczne byłyby również choćby podstawowe informacje dotyczące topografii, takie jak wysokość hipsometryczna, ukształtowanie powierzchni, wystawa i nachylenie stoków itp. Celowe byłoby również podanie współrzędnych geograficznych stanowisk badawczych.

W rozdziale 6 „Materiał i metody" przedstawiono na mapie (rycina 3) lokalizację stanowisk badawczych, opisano sposób poboru prób gleb i roślin, przygotowania prób do analiz, metody analiz składu pierwiastkowego materiału glebowego i roślinnego, analizy ilościowej badanych związków organicznych i

sposoby pomiarów biometrycznych wykonywanych w terenie. W kolejnych podrozdziałach przedstawione zostały metody analiz statystycznych, opisano sposób obliczania wskaźnika ryzyka zdrowotnego związanego z przyjmowaniem preparatów zawierających zanieczyszczone liście centurii, przedstawiono metody badań genetycznych z izolacją DNA, amplifikacją PCR, sekwencjonowaniem i analizami molekularnymi oraz metodą liczenia chromosomów. W ostatnim podrozdziale przedstawione zostały metody doświadczeń związanych z kiełkowaniem nasion centurii. Praca jest wielowątkowa i stąd wynika wielość zastosowanych metodyk, co przynajmniej w pierwszym czytaniu wymaga dużego skupienia. Kolejność przedstawianych zagadnień wydaje się właściwa, choć zazwyczaj opis analiz statystycznych zamieszcza się na końcu.

Zastanawia mnie wspomniane w opisie lokalizacji stanowisko kontrolne w okolicach Węglińca. Jakie były przesłanki uznania go za kontrolne poza tym, że podobnie jak stanowisko 5 reprezentowało teren wiejski. Nie zostało wyjaśnione, jakie były kryteria tej klasyfikacji charakteru terenu. Nie określono również jednoznacznie, które stanowiska zaliczone zostały do kategorii terenu wiejskiego, a które reprezentują drugą kategorię, tj. teren miejski lub przemysłowy. Zastanawiam się, czy nie można by uznać za wiejski terenu ze stanowiskiem w rejonie Mokrego Dworu na obrzeżach Wrocławia. Sposób poboru prób został prawidłowo opracowany. Nie budzą również moich wątpliwości analizy składu pierwiastkowego prób glebowych i roślinnych wykonane z wykorzystaniem szerokiej palety metod z użyciem spektrometrii absorpcji atomowej płomieniowej i z użyciem kuwety grafitowej, fotometrii płomieniowej, analizatora przepływowego, a także instrumentalnej analizy aktywacji neutronów INAA. Związki organiczne były oznaczane ilościowo z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz spektrometrii wysokiej rozdzielczości. Wykorzystana została wysokiej jakości aparatura, a o rzetelności wyników analiz świadczy niemal doskonała zgodność uzyskana w badaniach certyfikowanych materiałów referencyjnych. Szkoda, że dokumentujące to tabele 1 i 2 nie zostały zredagowane w ten sam sposób i staranniej. W tabeli 1 w czwartej i ostatniej kolumnie przedstawiono nie różnicę, a wyrażony procentowo stosunek wartości uzyskanej do certyfikowanej. W tabeli 2 niepotrzebnie są osobne kolumny przeznaczone na znak ±.

Zbyt lakonicznie opisana została metoda badań biometrycznych. Pojawiają się pytania: ile osobników mierzono na wydzielonych podpowierzchniach, w którym roku badań, jak zapewniono losowość ich wyboru itp. Dopiero po zapoznaniu się z wynikami badań łatwiej jest wyobrazić sobie ich metodykę. Np. czytając opis wyników pomiarów osobników juwenilnych (tabela 9, str. 54) można się dowiedzieć jak określana była wielkość rozety liściowej, a właściwie obliczony wskaźnik tej wielkości.

W opisie analiz statystycznych wspomniana jest jednokierunkowa analiza wariancji z zastosowaniem testów post-hoc dla porównania więcej niż dwóch średnich, jednak nie znalazłem takich wyników w poświęconych im rozdziale. Na str. 39 we wzmiance o użyciu testu korelacji Pearsona wspomniano, że wartości p poniżej poziomu istotności wskazują na statystyczne różnice pomiędzy grupami, podczas gdy chodzi tu o istotność statystyczną współczynnika korelacji.

Nie jest dla mnie jasne jakie i na jakiej podstawie założono dzienne spożycie liści centurii zawartych w preparatach zielarskich w celu obliczenia wskaźników ryzyka zdrowotnego.

We wstępie do opisu badań genetycznych Autorka pisze, że prowadzono je w celu ustalenia przyczyny stwierdzonych niewielkich różnic morfologicznych pomiędzy osobnikami centurii. Stoi to w sprzeczności z tekstem trzeciego celu badań przedstawionego na str. 11, gdzie jest mowa o potrzebie takich badań w związku z dużą zmiennością fenotypową gatunku.

Również lakoniczny opis badań kiełkowania nasion nie ułatwia wyobrażenia sobie planów kolejnych doświadczeń nawet po konfrontacji z przedstawieniem w kolejnym rozdziale ich wyników. Nasiona zebrane zostały ze wszystkich 10 stanowisk i zgromadzone w osobnych, jak to określono, grupach dla każdej lokalizacji w terenie. W opisie doświadczeń dotyczących energii kiełkowania, żywotności nasion i wpływu światła (6.15.2. – str. 44) jest mowa o pięciu grupach. Czy to 5 wybranych stanowisk czy chodzi o powtórzenia w kolejnych wariantach doświadczeń? Ta sama niejasność dotyczy doświadczenia z przemrażaniem nasion.

Wyniki badań zostały opisane w obszernym, liczącym 45 stron rozdziale zaczynając od zagadnienia składu pierwiastkowego gleb, a kończąc na badaniach genetycznych. Wydaje mi się, że korzystne dla spójności wywodu byłoby przesunięcie na koniec podrozdziału dotyczącego badań kiełkowania i żywotności nasion. To osobne zagadnienie, którego opis przerywa główny wątek dotyczący

problematyki biogeochemicznej. Wyniki przedstawione zostały w większości dobrze zredagowanych tabelach i na również czytelnych dobrze opracowanych wykresach. Zamieszczone zostały również fotografie przedstawiające wpływ światła na rozwój siewek centurii i jej chromosomy metafazalne.

Pierwszy podrozdział (7.1) opisuje wyniki stężeń pierwiastków w próbach gleb zebranych na stanowiskach centurii. Ponieważ w tytule pracy jest mowa o zróżnicowaniu siedliskowym oczekiwałbym tabeli lub panelu wykresów z oznaczonymi wartościami koncentracji pierwiastków i odczynu dla każdego stanowiska z osobna z zaznaczeniem zakresów dla którejś z miar rozproszenia i zaznaczonymi grupami jednorodnymi dla założonego poziomu istotności różnic pomiędzy średnimi. Stanowisk jest raptem dziesięć, zatem nie byłoby tu żadnego problemu natury redakcyjnej z przedstawieniem tych wyników. W tabeli 4 przedstawiono wartości średnie z rozstępem i odchyleniem standardowym dla odczynu oraz koncentracji pierwiastków potraktowanych łącznie, tj. dla wszystkich stanowisk. W opisie wyników Autorka porównuje te średnie z wartościami granicznymi dla gleb z danych literaturowych, wspomina, że najniższe koncentracje pierwiastków stwierdzono w kopalni kaolinu, koncentracje makroelementów (oprócz N) zawierały się w przedziałach podawanych jako typowe, większość prób gleb (które stanowiska?) przekraczała wartości tła dla metali ciężkich z wyjątkiem obszaru kontrolnego (? – w opisie metod była mowa o stanowisku kontrolnym nr 4). Wartości odczynu gleb podane zostały dla ośmiu stanowisk.

O zróżnicowaniu siedliskowym można się dowiedzieć więcej w dalszej części podrozdziału, gdzie przedstawiono wyniki analizy głównych składowych wykonane osobno dla makroelementów i mikroelementów. W tabelach zestawione zostały wartości ładunków czynnikowych zmiennych, a na diagramach pokazano uporządkowanie stanowisk badawczych w przestrzeni ordynacyjnej dla dwóch pierwszych składowych PCA. Nie kwestionując poprawności tak wykonanych analiz zastanawiam się, czy pełniejszego obrazu nie dostarczyłaby analiza uwzględniająca jednocześnie wszystkie badane pierwiastki, a także pominięte wartości odczynu gleb. Zestawione w tabelach wartości ładunków czynnikowych dają pogląd o znaczeniu poszczególnych pierwiastków w ogólnej zmienności właściwości siedlisk, jednak moim zdaniem łatwiej byłoby sobie wyobrazić relacje pomiędzy nimi i poszczególnymi stanowiskami, gdyby pokazać ich wektory w przestrzeni

ordynacyjnej PCA. Wartości pH wykazywały zmienność w zakresie ponad dwóch jednostek w pomiarach w wodzie i ponad trzech w KCl. Może mieć to istotne znaczenie w kontekście zagadnienia pobierania i gromadzenia pierwiastków przez centurię przedstawionego w dalszych częściach rozprawy. Wśród analizowanych pierwiastków pojawia się tu sód, który nie był wymieniony w opisie analiz w rozdziale „Materiał i metody".

Po zakończeniu podrozdziału opisującego charakterystykę składu pierwiastkowego gleb spodziewałbym się kolejnego, w którym przedstawione będzie gromadzenie pierwiastków w roślinach. Jednak te części zostały rozdzielone podrozdziałem 7.2. opisującym wyniki doświadczeń dotyczących kiełkowania nasion i rozwoju siewek centurii. Sądzę, że jest to osobne zagadnienie, którego przedstawienie w tym właśnie miejscu niepotrzebnie przerywa główny wątek pracy związany z biogeochemią i ekologią gatunku. Autorka stwierdziła stymulację wzrostu i rozwoju korzeni zarodkowych oraz wzrostu liścieni pod wpływem światła, brak jednak dowodzącej tego analizy statystycznej. Wspomniany już wcześniej skąpy opis planu doświadczenia z przemrażaniem nasion w rozdziale „Materiał i metody" w połączeniu z również pobieżnie opisanymi wynikami nie ułatwiają ich zrozumienia. W tabeli 8 liczby skiełkowanych nasion przy -5 °C i -10 °C z 2 i 3 dnia sumują się w wierszu „po 3 dniach", podczas gdy dla wariantu -20 °C następuje przeskok z 37 do 107. Jak to rozumieć? Nie zgadzają się również sumy nasion dla pięciu szalek w ostatnim wierszu tabeli. Na koniec pada niejasne dla mnie stwierdzenie: „Różnica w ilości wykiełkowanych nasion między grupami sprawdzanymi w trzech wariantach temperatur była istotna statystycznie (test t, $p<0.05$)". Jeżeli porównywane były trzy warianty temperatur, to test t nie jest tu właściwym narzędziem. Jeżeli porównania dotyczyły par grup danych dla 2 i 3 dnia, to czy różnice były istotne dla wszystkich wariantów temperatur?

Podrozdział 7.3. Przedstawia wyniki pomiarów biometrycznych juwenilnych osobników centurii, a także rezultaty trwającego cztery lata monitoringu liczebności populacji na stanowiskach badawczych. Badania przeprowadzono dla dwóch grup osobników juwenilnych – o rozetach złożonych z sześciu lub mniejszej liczby liści i powyżej sześciu liści. Brak w tym miejscu informacji o prowadzonych analizach statystycznych. Dopiero w „Dyskusji" na str. 91 pojawi się wzmianka, że nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy populacjami z terenów wiejskich i miejskich

lub przemysłowych. Parametry biometryczne osobników juwenilnych pojawią się jeszcze w dalszych częściach opisu wyników. Bardzo interesujące są wyniki czteroletniego monitoringu liczebności populacji z uwzględnieniem liczby osobników juwenilnych. Wykazuje on dramatyczny spadek liczebności wszystkich populacji, a w części z nich zanik obecności osobników juwenilnych świadczący o głębokim zaburzeniu struktury demograficznej.

W podrozdziale 7.4. przedstawione zostały wyniki zawartości badanych pierwiastków w liściach centurii, w dalszej części w połączeniu z wynikami pomiarów biometrycznych. Podobnie jak przy opisie wyników analiz gleb także w tym wypadku podano wartości koncentracji pierwiastków łącznie, tj. jako średnie obliczone dla wszystkich stanowisk, również osobno zestawiając makroelementy i pierwiastki śladowe. Także w tym wypadku zostały one odniesione do wartości uznawanych w źródłach literaturowych za progowe, stwierdzając ich przekroczenia w wypadku metali ciężkich na wszystkich powierzchniach z wyjątkiem kontrolnej. Takie łączne ujęcie wyników analiz zawartości pierwiastków w liściach centurii znowu nie daje odpowiedzi, czy odzwierciedlają one tytułowe zróżnicowanie siedlisk, a w tym, czy rośliny z terenów zaklasyfikowanych jako wiejskie istotnie różnią się od tych z terenów potencjalnie zanieczyszczonych. W tym podrozdziale pojawiły się wyniki kolejnych pomiarów biometrycznych dotyczących osobników dwuletnich. Parametry biometryczne zestawiono w dwóch tabelach (15 i 16). W pierwszym wypadku podane zostały średnie, mediany, zakresy minimum – maksimum i odchylenie standardowe obliczone łącznie dla wszystkich stanowisk. W drugim te same parametry porównano dla stanowisk zaklasyfikowanych jako przemysłowe i miejskie z tymi z obszarów wiejskich. Test t wykazał statystycznie istotną różnicę tylko dla wysokości roślin. W kolejnych dwóch tabelach ponownie pojawiły się wyniki analiz biometrycznych osobników juwenilnych. W tabeli 17 zestawiono wyniki korelacji pomiędzy długościami liści i wielkościami rozet osobników juwenilnych z parametrami osobników dwuletnich. Nie jest dla mnie jasne czy zestawione wartości tworzą macierz (współczynników?) korelacji Pearsona o czym jest mowa w opisie czy wartości p, jak to jest zapisane w drugim wierszu tabeli. W tabeli 18 ponownie porównano średnie i mediany parametrów biometrycznych stanowisk zaklasyfikowanych jako przemysłowe i miejskie z tymi z obszarów wiejskich, tym

razem w odniesieniu do osobników juwenilnych, nie odnotowując istotnych statystycznie różnic.

Ciekawe wydają się wyniki klasyfikacji opartej o parametry biometryczne z zastosowaniem grupowania metodą Warda z użyciem odległości euklidesowych jako miar podobieństwa. Uzyskany został dendrogram (rycina 8), w którym główne skupienia istotnie różnią się statystyczne pod względem wartości parametrów biometrycznych. Ponieważ zawierają one przemieszane ze sobą stanowiska wiejskie oraz miejskie i przemysłowe, można przyjąć, że charakter obszaru nie wpływa na cechy biometryczne centurii. Autorka badała również korelacje pomiędzy parametrami biometrycznymi a koncentracjami pierwiastków w glebach (tabela 14) oraz w roślinach (tabela 19), a także pomiędzy zawartościami metali ciężkich w glebach i liściach (tabela 20) oraz koncentracjami pierwiastków w glebach a wielkością rozet osobników juwenilnych (tabela 21). Uzyskano liczne korelacje o istotnych statystycznie współczynnikach, jednak interpretacja natury tych współzależności wydaje mi się trudna. Sądzę, że za bardziej przekonujące można uznać wyniki zastosowanej analizy regresji wielokrotnej, gdzie w uzyskanym modelu wysokość roślin jako zmienna zależna była istotnie stymulowana koncentracjami azotu, żelaza i fosforu w glebie oraz azotu i potasu w tkankach liści.

W dalszej części podrozdziału wyniki analizy głównych składowych PCA dla parametrów biometrycznych oraz zawartości centurii. W pierwszym wypadku ładunki czynnikowe wskazują bardzo silny wpływ wszystkich parametrów na ogólną zmienność pierwiastków śladowych w liściach, a diagram rozrzutu stanowisk w przestrzeni ordynacyjnej PCA wskazuje wyraźną separację powierzchni 5, 6 i 7, jednak z uwagi na uogólniony sposób przedstawienia wyników badań nie wiadomo, co różni rośliny z tych stanowisk. Podobnie można skomentować wyniki analizy PCA dotyczącej zawartości pierwiastków śladowych w liściach. Mam tu podobne uwagi do tych dotyczących analizy PCA dotyczącej zawartości pierwiastków w glebach. Moim zdaniem szkoda, że pominięte zostały makroelementy. Wspomniane wyżej wyniki regresji wielokrotnej wskazują, że np. koncentracje azotu i potasu mogłyby wzbogacić uzyskany obraz.

Tę część pracy kończy opis wyników badań dotyczących oceny ryzyka dla zdrowia człowieka wynikającego ze spożywania zanieczyszczonych preparatów z centurii. Obliczone wskaźniki nie wykazały takiego zagrożenia.

Podrozdział 7.5. został poświęcony wynikom badań zawartości w liściach trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO). Przedstawiono wyniki analiz w sumie kilkudziesięciu związków należących do kilku istotnych grup zaliczanych do TZO. Porównywane były koncentracje stwierdzone na powierzchniach reprezentujących obszary wiejskie z przemysłowymi i miejskimi. Dla polibromowanych eterów difenylowych (PBDE) zamieszczono również wartości odniesieniowe dotyczące mchów z Norwegii. Dla tej właśnie grupy związków w większości wypadków stwierdzone zostało istotnie wyższe zanieczyszczenie prób pobieranych na obszarach przemysłowych i miejskich. W sumarycznie ujętych ilościach zanieczyszczeń organicznych również ta grupa związków oraz alkilowane wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne WWA istotnie przeważały w próbach z obszarów przemysłowych i miejskich.

Ostatni podrozdział 7.6. przedstawia opis wyników badań genetycznych. W badaniach genu maturazy K zidentyfikowano wśród badanych osobników centurii po raz pierwszy w Europie Środkowej haplotyp specyficzny dla obszaru zachodnio-śródziemnomorskiego. Stwierdzono stałość liczby chromosomów (38) u wszystkich osobników, nie wykryto procesu endoduplikacji. Ujawniono polimorfizm na wszystkich stanowiskach.

Rozdział „Dyskusja" obejmuje piętnaście stron i siłą rzeczy wobec wielowątkowości rozprawy nie należy się spodziewać rozważań wnikających szczególnie głęboko w materię kolejnych zagadnień. Po części może to wynikać z nowatorskich aspektów badań i związanego z tym braku dotyczącej ich literatury. Dotyczy to rozpoczynającego ten rozdział zagadnienia wpływu właściwości siedlisk na cechy biometryczne centurii. Szerzej potraktowane są zagadnienia biogeochemiczne z odniesieniami do funkcji fizjologicznych niektórych pierwiastków. Ciekawe, choć wykraczające poza główną część wyników są tu np. dywagacje na temat rzadko rozważanych w literaturze ekologicznej pierwiastków jak bar i lit. Ogólnie jednak wobec ilości uzyskanych wyników dyskusja na temat składu pierwiastkowego gleb i roślin wydaje się raczej uboga i nieproporcjonalna np. w stosunku do kolejnej części poświęconej kiełkowaniu nasion i rozwojowi siewek. Szerzej i lepiej potraktowane zostały w dyskusji zagadnienia genetyczne, szczególnie w aspekcie odkrytego podgatunku o zasięgu zachodnio-śródziemnomorskim. Autorka rozważa możliwość jego zawleczenia, ale nie wyklucza również naturalnego

przesuwania się zasięgu wymuszonego zmianami klimatu. To z pewnością ciekawe zagadnienie warte dalszych badań. W kolejnej, szerzej ujętej części rozważane jest zagadnienie składu pierwiastkowego liści centurii w świetle funkcji zdrowotnych jej preparatów, m.in. roli takich pierwiastków jak chrom, selen, wanad i cynk. Dyskutowana jest kwestia ew. przekroczeń dawek pierwiastków potencjalnie szkodliwych dla zdrowia człowieka. Nie znalazłem w pracy informacji, jakie może być dzienne spożycie preparatów zielarskich z liści centurii. Wydaje mi się w takiej sytuacji, że spekulacje oparte tylko o koncentracje stwierdzone w toku analiz mają problematyczną wartość. Najobszerniej przedstawiona, interesująca i dobrze napisana jest część poświęcona trwałym zanieczyszczeniom organicznym (TZO). Wydaje się, że jest to zagadnienie dotąd niedoceniane i zbyt słabo obecne w ogólnej literaturze ekologicznej, zwłaszcza w świetle wspominanej przez Autorkę zdolności do biomagnifikacji tych związków w sieciach troficznych. Dyskusję kończą rozważania na temat kwestii zagrożeń dla naturalnie występujących populacji gatunku w związku z wysokim zapotrzebowaniem na surowiec zielarski. Z kolei w odniesieniu do upraw sugeruje w oparciu o wyniki pracy zwrócenie uwagi na nawożenie oraz kontrolę poziomów koncentracji toksycznych pierwiastków i trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO).

Za „Dyskusją" umieszczone zostało jednostronicowe „Podsumowanie". Streszcza ono najważniejsze wyniki, jednak napisane dość chaotycznie wymaga od czytelnika wzmożonej koncentracji. Myślę, że byłoby znacznie czytelniejsze i łatwiejsze w percepcji, gdyby treść została ujęta w rozbudowanych punktach. Wydaje się również, że zaburzone są proporcje pomiędzy podsumowywanymi częściami pracy.

Tekst rozprawy kończy zestawienie ośmiu wniosków. Moje wątpliwości budzą pierwsze dwa z nich. Są one oparte o analizy korelacji, do których Autorka przywiązuje moim zdaniem zbyt dużą wagę, co sygnalizowałem już odnosząc się do opisu wyników. Korelacje wskazują związki pomiędzy zmiennymi, pozwalają ocenić ich istotność, ale nie przesądzają o przyczynowości zjawisk. Nadmiarowo sformułowany wydał mi się wniosek 7, mówiący że badane w Polsce populacje różnią się genetycznie (...). Badano populacje na tylko dziesięciu stanowiskach południowo-zachodniej części Polski, byłbym ostrożny z ekstrapolowaniem uzyskanych wyników dotyczących stosunkowo częstego gatunku na cały obszar

kraju. Uzyskane wyniki pozytywnie weryfikują sformułowane na początku pracy hipotezy badawcze, co można było zaznaczyć przypisując je do odpowiednich wniosków.

Wskazane przeze mnie stosunkowo liczne niedociągnięcia i braki nie mają zasadniczego znaczenia dla oceny merytorycznej jakości badań i płynących z nich wniosków. W części dotyczą m.in. nadmiernej moim zdaniem skrótowości w opisie metod i przedstawieniu wyników. Manuskrypt jako forma rozprawy nie narzuca ograniczeń objętości i sądzę, że można to było wykorzystać do szerszego przedstawienia treści i ułatwienia jej percepcji czytelnikowi. Moje uwagi sięgające kwestii merytorycznych w dużej części mają charakter dyskusyjny i wynikają np. z innego poglądu na temat sposobu przedstawienia rezultatów badań. Nie dają one podstaw do kwestionowania poprawności wykonanych badań i wyciągniętych z nich wniosków. Inne uwagi i sugestie dotyczą kwestii redakcyjnych nie dotykających meritum i wartości naukowej rozprawy. Przypuszczam, że część wskazanych niedostatków może wynikać ze zbyt mało uważnego przeczytania przez Autorkę końcowej wersji manuskryptu oraz być może pośpiesznej i nie do końca uważnej redakcji, w toku której przeoczone zostały np. nadmierne skróty opisu w niektórych miejscach.

Wartość naukową rozprawy Anny Brudzińskiej-Kosior oceniam pozytywnie, a do głównych jej zalet i osiągnięć zaliczam:

1. Szerokie ujęcie zagadnień właściwości siedlisk i ich wpływu na gospodarkę mineralną centurii pospolitej i wyrażoną przez parametry biometryczne reakcję gatunku na czynniki edaficzne z uwzględnieniem roli makroelementów i szerokiego spektrum pierwiastków śladowych.
2. Ocenę gromadzenia w liściach centurii pospolitej kilku grup związków zaliczanych do trwałych zanieczyszczeń organicznych, a w tym wykazanie zdolności gatunku do akumulacji polibromowanych difenyloeterów (PBDE) i alkilowanych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA).
3. Wykazanie zróżnicowania genetycznego populacji w badanym rejonie kraju i odkrycie niepodawanego dotąd z obszaru Europy Środkowej podgatunku typowego dla rejonu zachodnio-śródziemnomorskiego.
4. Stworzenie solidnych podstaw do planowania dalszych kierunków badań pogłębiających rozpoczęte wątki.

Niewątpliwym walorem jest szerokie spektrum badanych zagadnień. Materiał zawarty w manuskrypcie rozprawy może stać się zaczynem do przygotowania obszernej monografii gatunku w rodzaju tych publikowanych w serii Biological Flora of the British Isles w Journal of Ecology.

Kiedy w trakcie przygotowań do wykonania tej recenzji przeglądałem bazy literaturowe w poszukiwaniu pozycji związanych z tematyką rozprawy, uderzyło mnie odkrycie, że Autorka opublikowała już trzy artykuły w renomowanych czasopismach o obiegu międzynarodowym przedstawiające w nieco innym ujęciu wyniki tych samych badań. Publikacje te dotyczą trzech głównych części badań wchodzących w skład ocenianej rozprawy: 1) zawartości metali i biometrii *Centaurium erythraea*[1], 2) badań zawartości polibromowanych eterów difenylowych (PBDE)[2] i 3) zastosowania instrumentalnej analizy aktywacji neutronów INAA w badaniach zawartości pierwiastków śladowych u centurii[3]. Brak ich w spisie pozycji literatury cytowanych w rozprawie. Pani mgr Anna Brudzińska-Kosior we wszystkich tych artykułach jest pierwszym autorem i zapewne wiodącym, ale łącznie zaangażowanych jest piętnastu badaczy z kilku ośrodków krajowych i zagranicznych. Taka współpraca we współczesnej nauce jest oczywiście czymś naturalnym i godnym uznania. Uważam jednak, że pominięcie trzech pozycji dotyczących kluczowych części badań obniża wartość merytoryczną „Dyskusji" rozprawy, a ponadto przynajmniej w części poddaje w wątpliwość twierdzenie z pierwszej strony „Wstępu", że (cyt.:) „Z poznawczego punktu widzenia niniejsze opracowanie jest pierwszym w Polsce i w Europie studium nad ekologią biogeochemią i zróżnicowaniem genetycznym *C. erythraea.*". Nieznany pozostaje również zakres udziału Autorki na tle pracy pozostałych współautorów. Uważam, że bardziej właściwa byłaby forma rozprawy przygotowanej jako spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych z wykazaniem indywidualnego wkładu

---

1 Brudzińska-Kosior A., Kosior G., Samecka-Cymerman A., Kolon K., Mróz L., Kempers A.J. 2012. Metal contents in Centaurium erythraea and its biometry at various levels of environmental pollution Ecotoxicol Environ Saf, 80; 349–354 https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.04.005

2 Brudzińska-Kosior A., Kosior G., Klánová J., Vaňková L., Kukučka P., Chropeňová M., Samecka-Cymerman A., Kolon K., Mróz L., Kempers A.J. 2015. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in herbaceous Centaurium erythraea affected by various sources of environment al pollution, Journal of Environmental Science and Health, Part A, 50:13, 1369-1375, DOI: 10.1080/10934529.2015.1064282

3 Brudzińska-Kosior A., Kosior G., Sporek M., Ziembik Z., Zinicovscaia I., Frontasyeva M., Dołhańczuk-Śródka A. 2023. Nuclear analytical techniques used to study the trace element content of Centaurium erythraea Rafn, a medicinal plant species from sites with different pollution loads in Lower Silesia (SW Poland). PLoS ONE 18(5): e0285306. https://doi. org/10.1371/journal.pone.0285306

kandydata, jak to formułują punkty 2 i 4 artykułu 13 przywoływanej poniżej ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym (...). Uzupełnienie zestawu opublikowanych artykułów o manuskrypt zawierający pozostałe części badań dałoby końcowy efekt niebudzący wątpliwości merytorycznych i formalnoprawnych. Nie miałem dotąd do czynienia z taką sytuacją w trakcie już kilkunastoletniego doświadczenia w recenzowaniu rozpraw doktorskich. Uważam, że pojawić się mogą wątpliwości natury formalnoprawnej dotyczące praw współautorów i wagi wkładu Autorki w całość dzieła oraz ewentualne podejrzenie podwójnego wykorzystania tych samych wyników badań. Analiza aspektów formalnoprawnych wykracza poza horyzont moich kompetencji i zakres zleconej merytorycznej oceny rozprawy, dlatego pozostawiam ją do ewentualnego rozważenia władzom Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego.

W ostatecznej konkluzji stwierdzam, że pod względem merytorycznym przedstawiona do oceny rozprawa doktorska odpowiada wymogom stawianym dysertacjom doktorskim zgodnie z przepisami ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie mgr Anny Brudzińskiej-Kosior do dalszych etapów przewodu doktorskiego.